Aus dem Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend

Direktor: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f

Über das infiltrierend- destruierende Wachstum von Karzinomen im Fettgewebe

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

LIEDTKE, Renate
aus Berlin.

1968

Druck:

ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.

DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE

1 Berlin 33, Garystr. 45

Aus dem Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend

Direktor: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f

Über das infiltrierend- destruierende Wachstum von Karzinomen im Fettgewebe

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

LIEDTKE, Renate
aus Berlin.

Dekan: Professor Dr. med. Hans Wolfgang Spier

Referent: Priv.Doz.Dr.med. Friedrich Lindlar

Korreferent: Professor Dr. med. Wilhelm Maßhoff

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 7. März 1968

UNIV. LEIDEN BIBL.

Über das infiltrierend- destruierende Wachstum von Karzinomen im Fettgewebe.

	Seite
I. Einleitung	
A) Bisherige Untersuchungen	1-4
B) Eigene Zielsetzungen	5
II. Eigene Untersuchungen	
A) Material und Methodik	6-12
1. Histochemie	6
2. Enzymhistochemie	6-9
3. Chemische Analysen	9-12
B) Ergebnisse	12-23
1. der histochemischen Untersuchungen	16-20
2. der chemischen Untersuchungen	20-21
3. zusammenfassendes Ergebnis	22-23
C) Diskussion der Ergebnisse	28-31
III. Zusammenfassung	27
IV. Literaturangabe	28-31

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552705_0015

I. Einleitung

I.A) Bisherige Untersuchungen

In der Umgebung von Mammakarzinomen läßt das Fettgewebe oft Besonderheiten der Farbe erkennen, die von einem kräftigen Goldgelb in unmittelbarer Nähe des Tumors weiter peripher mehr in ein Blaßgelb überzugehen pflegt; das goldgelbe Fett scheint überdies eine festere Konsistenz zu besitzen als das blaßgelbe. Mikroskopisch erweist sich das Fett in den Zellen unmittelbar vor der Invasionsfront des Tumors meist kleintropfiger als das weiter entfernt gelegene. Veränderungen der vorliegenden Art sind bis heute nur zum Teil deutbar. FLEMMING (1871) weist darauf hin, daß Fett umso gelber erscheint, je kleiner die Tropfen sind. Außer dem bekannten Einfluß von Lipochromen, insbesondere Carotinoiden auf die Farbe des Fettgewebes dürfte die Zellstruktur und insbesondere eine Vermehrung der Zellgrenzflächen eine Rolle für die Farbintensität spielen (RABL, 1940). Offensichtlich geht im Fettgewebe eine vom Tumor induzierte Veränderung vor sich, bei der die Zelle zunächst kleiner wird und schließlich vollständig verschwindet. Das die Matrix zerstörende Wachstum ist bekanntlich

ein Kennzeichen für die Malignität eines Neoplasmas (LUBARSCH, 1908).

Nach LETTERER (1959) muß man eine primäre und eine sekundäre Destruktion des Matrixgewebes unterscheiden, letztere folgt auf eine das Gewebe zur Atrophie bringende Infiltration. Auf welche Weise der Tumor das Gewebe infiltriert und zerstört, wurde von verschiedenen Seiten untersucht, ohne daß der Mechanismus bis heute eindeutig geklärt werden konnte. YOUNG und Mitarb. (1950) und FUCHS (1957) zeigten, daß in malignen Tumoren durch die gesteigerte Proliferation ein höherer Druck herrscht als im umgebenden Gewebe, was dem Tumor die Infiltration erleichtern soll. Neben dem Wachstumsdruck scheinen aber auch Enzyme eine Rolle zu spielen. BOYLAND und McLEAN (1935) bestimmten in tierischen Geweben den Gehalt an Hyaluronidase, einem Ferment, das die Mukopolysaccharide der Kittsubstanzen depolymerisiert und wasserlöslich macht. Maligne Tumoren, besonders rasch infiltrierend wachsende, erwiesen sich reicher an Hyaluronidase als gutartige Tumoren und normales Gewebe. Auch eine Reihe anderer Fermente wurde in malignen Neoplasmen untersucht und histo- und zytotopisch lokalisiert. Von den bekannten Beispielen seien erwähnt: der Reichtum des Prostatakarzinoms und seiner Metastasen an saurer

Phosphatase (GOMORI, 1941), die stark positive Reaktion der alkalischen Phosphatase im EWING-Sarkom (GOMORI, 1946) und schließlich der an Esterasen recht hohe Gehalt des Schilddrüsenkarzinoms (COHEN und Mitarb., 1951). Es zeigt sich aber auch, daß es nach bisheriger Kenntnis in Neoplasmen keinen Anhalt für das Vorliegen besonderer Fermente gibt, die etwa das normale Gewebe nicht besitzt (LETTERER, 1959).

Einen Sonderfall infiltrierend-destruierenden Wachstums stellt das Eindringen eines Neoplasmas in Fettgewebe dar, wie es, wie bereits angedeutet, beim Mammakarzinom, aber häufig auch beim Colonkarzinom, insbesondere beim Sigma- und Rectumkarzinom anzutreffen ist. Morphologisch und biochemisch gesehen bildet Fettgewebe ein verhältnismäßig einfaches Gewebe. Seine Trockensubstanz besteht zu rund 95 % aus Glyzeriden (LINDLAR, 1962). Fettgewebe könnte man daher als Modell für das Studium der Vorgänge betrachten, die bei Gegenwart eines bösartigen Tumors histochemisch und biochemisch im Lipoidbereich ablaufen. "Es ist eine bekannte Beobachtung," schreibt KELLNER (1933), "daß Fett um einen Krebszapfen schmilzt wie Schnee um einen heißen Stab". Die Ursache des Fettschwundes

könnte in einer Druckatrophie liegen (FUCHS, 1958), aber auch in der Fähigkeit der Krebszellen, das Fett fermentativ zu spalten, wobei möglicherweise auch Spaltprodukte nachzuweisen wären. In der Literatur finden sich zahlreiche Untersuchungen über den Esterase- und Lipasegehalt von Mamma- und Colonkarzinomen (GOMORI 1946, COHEN und Mitarb. 1951, WACHSTEIN und Mitarb. 1959, MELNIK und BULLOCK 1959 und andere). Sie enthalten aber kaum Hinweise auf die Beziehungen zwischen dem Fermentgehalt der Invasionsfront des Tumors bzw. dem des infiltrierten Fettgewebes und einer möglichen Fettspaltung.

I.B) Eigene Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit soll geprüft werden, ob und auf welche Weise Karzinome, die in Fettgewebe einwachsen, in diesem zur Fettspaltung befähigt sind. Die eigenen Untersuchungen gliedern sich nach folgender Fragestellung:

1. Gibt es histologische insbesondere histochemische Hinweise auf eine chemische Lipoidspaltung im Sinne der Hydrolyse?
2. Ergeben sich aus dem enzymhistochemischen Nachweis von Esterasen und Lipasen Rückschlüsse auf eine bevorzugte Lipoidspaltung in der Infiltrations- und Destruktionszone des Neoplasmas?
3. Läßt sich durch chemisch-analytische Untersuchungen der Lipoide im tumornahen oder tumorfernen Fettgewebe eine Lipoidspaltung indirekt beweisen?

II. Eigene Untersuchungen

II.A) Material und Methodik

Zur Untersuchung gelangen 37 durch Biopsie bzw. Autopsie gewonnene Karzinome, davon 18 Mammakarzinome und 19 Colonkarzinome. Um die einwandfreie Technik der enzymatischen Reaktion zu überprüfen, wird bei jeder Untersuchung auf Esterase Mäuseniere, auf Lipase Mäusepankreas in Parallelversuchen getestet. Ebenso werden normales Drüsengewebe der Mamma und normale Dickdarmwand untersucht.

II.A) 1. Histochemie

Die H.E.-, Fett- und Kollagenfaserfärbung werden an formalinfixiertem Material nach Gelatine- bzw. Paraffineinbettung vorgenommen (ROMEIS, 1948). Außer mit Scharlachrot wird mit Sudanschwarz gefärbt, weil sich zeigte, daß mit diesem Farbstoff oft noch Teilchen dargestellt werden können, die bei der Scharlachrotfärbung nicht in Erscheinung treten (LENNERT und WEITZEL, 1952). Die Darstellung der freien Fettsäuren nach MEYER-BRUNOT wird in Anlehnung an die Vorschriften von LIPP (1959) ausgeführt.

II.A) 2. Enzymhistochemie

Für die Enzymuntersuchungen werden die Gewebsstückchen

12 - 24 Std. in mit 1 % Calciumchlorid versetztem neutrale Formalin (5 %) bei 4° C fixiert. Die Dicke der Gefrierschnitte beträgt durchschnittlich 10 µ.

Azomethode zum Nachweis der Esterasen
Substrat Naphtol-AS-D-acetat (GÖSSNER, 1955), Diazoniumsalz Echtrotviolettsalz LB (SERVA- Entwicklungslabor, Heidelberg). Zur Herstellung der Inkubationslösung werden 20 mg Naphtol-AS-D-acetat in 2 ml Aceton gelöst, 100 ml K-Na-Phosphatpuffer (pH 7,2) zugegossen und zu dieser Flüssigkeit unter Rühren soviel Echtrotviolettsalz hinzugegeben, bis sie hellgelb aussieht. Inkubationszeit 20 min. bei Zimmertemperatur. Anschließend häufiges Spülen mit dest. Wasser. Einbettung in Glyceringelatine. Ergebnis: Zellen mit Esteraseaktivität zeigen eine weinrote Farbe. Negativkontrolle durch Hemmung mit NaF.

Tween-Methode zum Nachweis der Lipasen
Substrat Tween 80 (GOMORI, 1946). Dieser ungesättigte Fettsäureester von Sorbit und Mannit wird durch Lipasen hydrolysiert. Die freigesetzten Fettsäuren bilden mit dem der Inkubationslösung zugesetzten Calcium unlösliche

Kalkseifen, die zuerst zu Bleiseifen, dann zur Sichtbarmachung zu Bleisulfid umgesetzt werden. Zur Herstellung der Stammlösung (McMANUS und MOWRY, 1960) werden 5 mg Tween in 100 ml Veronalpuffer (pH 7-7,4) gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 0,5 g Calciumchlorid und einige Kristalle Kampfer. Die Lösung wird filtriert (Asbestfilter) und ist bis zu 3 Monaten im Kühlschrank aufbewahrt haltbar. Aus der Stammlösung wird bei jedem Versuch die Inkubationslösung hergestellt, indem 1 ml Stammlösung mit 45 ml Veronalpuffer (pH 7,2), 3 ml 2 % Calciumchloridlösung und einigen Kristallen Kampfer versetzt werden. Die aufgezogenen Gefrierschnitte werden im allgemeinen 24 Std. inkubiert, anschließend mit dest. Wasser gespült, dann 10 min. in 2 % Bleinitratlösung im Ofen auf 50° C erwärmt. Nach gründlichem Spülen in Aqua dest. und Leitungswasser werden die Objekte für einige Minuten in 2 % gelbes Ammonsulfid getaucht. Nachspülen in fließendem Wasser. Gegenfärbung mit Hämalaun und Einbettung in Glyceringelatine. Zur positiven Kontrolle dient Mäusepankreas, zur negativen werden die Schnitte durch Hitze inaktiviert oder das Ferment mit Chinin gehemmt.

Ergebnis: Bezirke mit Lipaseaktivität färben sich dun-

kelbraun bis schwarz.

II.A) 3. Chemische Analyse.

Herstellung der Organextrakte

Die Lipoide werden nach der von FOLCH und Mitarb. 1957 angegebenen Methode extrahiert. Aus der Umgebung mehrerer Mamma- und Colonkarzinome werden goldgelbe tumornahe und blaßgelbe tumorferne Fettgewebsstückchen von je etwa 0,1 g Gewicht entnommen, in kleine Reagenzgläser gegeben und mit dem etwa 20-fachen Volumen eines Chloroform- Methanol- Gemisches (2:1 VT) übergossen. Die verschlossenen Röhrchen werden 1 - 2 Tage unter gelegentlichem Umschütteln bei Zimmertemperatur belassen. Nach dem Abfiltrieren der Organrückstände wird das Filtrat mit 1/5 des Volumens Wasser ausgeschüttelt und die untere Phase in einem 10 ml-Meßkolben mit Chloroform- Methanol- Gemisch bis zur Marke aufgefüllt. Je 1 ml wird in ein kleines tariertes Reagenzglas einpipettiert und im Trockenschrank bei 60 - 65° C bis zur Gewichtskonstanz eingedampft.

Dünnschichtchromatographie

Zur qualitativen Untersuchung auf freie Fettsäuren, Di-

und Triglyceride, freies und verestertes Cholesterin werden nach der Methode von MANGOLD und TUNA (1961) Dünnschichtchromatogramme angefertigt. Zur Herstellung der Dünnschichtplatten wird das Gerät der Firma DESAGA (Heidelberg) verwendet. Die Trägerschicht besteht aus Kieselgel "MERCK", mittlere Korngröße 10 - 40 µ; sie wird in 0,3 mm Dicke auf 20/20 cm große Glasplatten aufgetragen. Als Fließgemisch dient Petroläther (Kp. 60-70° C), Diäthyläther und Essigsäure im Volumenverhältnis 87:13:1 (RANDERATH, 1962). Die Gesamtlipoide werden in Mengen von jeweils 2 mg (in etwa 1 ml Petroläther gelöst) unter Verwendung eines Föhns punktförmig aufgetragen. Die Laufzeit beträgt rund eine Stunde. Die auf der Dünnschichtplatten getrennten Substanzen werden durch Besprühen mit einer 5 % äthanolischen Phosphormolybdänsäurelösung und anschließendes Erhitzen auf 100° C dargestellt.

Gaschromatographie

Zur Umesterung der Lipoide werden die Proben 2 Std. mit 5 %, absolut wasserfreier methanolischer HCl

in zugeschmolzenen, besonders dickwandigen Ampullen erhitzt und dadurch in ihre Methylester übergeführt. Aus dem Reaktionsgemisch werden die Methylester der Fettsäuren durch dreimaliges Ausschütteln mit niedrigsiedendem Petroläther ausgeäthert und der Extrakt zur sicheren Abtrennung etwaiger Reste von Salzsäure mehrere Male mit destilliertem Wasser neutral gewaschen. Die petrolätherische Lösung wird unter Stickstoffstrom zur Trockne eingedampft und gewogen. Sodann wird aus den Fettsäure-Methylestern eine annähernd 1% petrolätherische Lösung hergestellt, die entweder sofort der Gaschromatographie zugeführt oder bis zur Analyse bei -10° C aufbewahrt wird.

Zur gaschromatographischen Analyse dient das Gerät Modell 803 der Firma F&M Scientific Corporation, Avondale, Penn., USA. Zur Orientierung bei der Einrichtung und Testung des Gerätes für die Trennung der Fettsäure-Methylester hielten wir uns an die von EBERHAGEN (1965) zusammengestellten Angaben. Die Säulenabmessung

beträgt 2 m in der Länge und 3 mm im Durchmesser. Feste Trägersubctanz Chromosorb G (80-100 mesh entspr. Din 0,15-0,2), stationäre Phase 2% Äthylenglycolsuccinatpolyester. Trägergas Helium, Durchflußgeschwindigkeit 80 ml/min, Druckabfall längs der Säule 1,0 kg/cm^2, Säulentemperatur 170^o C, Temperatur im Einspritzblock 272^{o}C, im Flammenionisationsdetektor 250^{o}C, Papiervortrieb 1/2 zoll/min. Eingespritzt werden jeweils 15 bis 25 gamma Fettsäure-Methylester, entsprechend 1,5 bis 2,5 µl der 1% petrolätherischen Lösung.

Zur Identifizierung der gaschromatisch getrennten Fraktionen stehen authentische Substanzen zur Verfügung, an Handelspräparaten die gesättigten Fettsären mit gerader C-Zahl von C_{12}-C_{24}, die ungesättigten Säuren der C_{16} und C_{18}-Reihe, sowie die vierfach ungesättigte C_{20}-Säure (Arachidonsäure). Die Fettsäuren werden nach der heute üblichen Schreibweise so bezeichnet, daß die Zahl der Kohlenstoffatome als Index zum C, die Zahl der Doppelbindungen durch einen Doppelpunkt getrennt folgt. Beispiel Arachidonsäure $C_{20:4}$.

II.B) Ergebnisse

II.B) 1. Ergebnis der histochemischen Untersuchungen

An den Fettgewebszellen vor der Invasionsfront des Tumors fällt auf, daß sie meist kleiner und runder sind als die weiter entfernten Zellen (Abb.1). Die Fettgewebszellen scheinen der Krebsausbreitung im allgemeinen weniger Widerstand entgegenzubringen als das septierende Bindegewebe der Läppchen. In den meisten Fällen geht der Krebszellinfiltration des Fettgewebes eine Rundzell-

Abb. 1: In Fettgewebe eindringende Zellen eines Mammakarzinoms. H.E.-Färbung. Vergrößerung 1:80.

infiltration voraus. Sicherlich tritt auch Plasma aus den Gefäßen aus, denn das Interstitium erscheint ödematös verbreitert. Die zelligen Infiltrate bestehen überwiegend aus Lymphozyten, man sieht aber auch besonders bei Dickdarmkarzinomen zahlreiche Plasmazellen. Nicht in allen Fällen dringen die Epithelien des Krebses als erste Bestandteile des Tumors ins Fettgewebe ein, häufig schickt der Krebs sein Stroma voraus. Dieses erweckt dann den Eindruck, als ob es die erhaltenen Fettgewebszellen gewissermaßen in seine Wuchsrichtung ordnet. Die stromaarmen medullären Krebse scheinen im Anschluß an den Schwund der Fettgewebszellen vielfach das präexistente septierende Bindegewebe als Gerüst zu benutzen. Aber auch stromareiche Neoplasmen halten sich offenbar zunächst an das septale Gerüst.

Die Fettfärbung ergibt im Zytoplasma der meisten Karzinomzellen sudanophile Bestandteile, wobei hinsichtlich der Größe und Zahl offenbar keine Abhängigkeit von der Nähe des Fettgewebes besteht. Adenokarzinome zeigen oft feinsttropfige Partikel, mitunter mehr diffuse Anfärbung

in Form periluminaler oder basozellulärer Säume. In der Lichtung zahlreicher Drüsen finden sich (besonders in der Nähe von Nekrosen) Zellen mit stark angefärbtem, oft großtropfigem Inhalt, durch welchen der Zellkern manchmal verdeckt ist. Möglicherweise handelt es sich hier um abgeschilferte nekrotisierende Tumorzellen. Das Tumorstroma zeigt nur in der Nekrobiosezone Verfettung.

Bei der Darstellung der freien Fettsäuren mit Hilfe der Bleisalzmethode finden sich in den Epithelien der Mammakarzinome im allgemeinen mehr Substanzen als in den Colonkarzinomen. Man sieht kleinsttropfige Partikel im Zytoplasma, der Kern bleibt frei. Die Fettzellen an der Peripherie des Tumors wie auch das Stroma reagieren meist negativ. In der Umgebung von Nekrosen zeigen die Tumorzellen etwas stärkere, die Stromazellen schwach positiven Ausfall der Reaktion (Abb. 2).

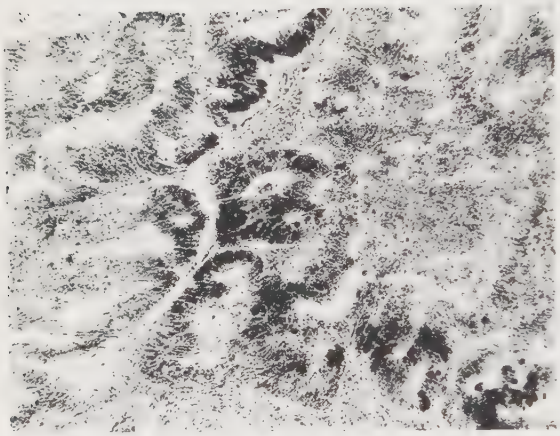

Abb.2: Adenokarzinom der Mamma. Rechts Nekrose. Färbung der freien Fettsäuren mit der Bleisalzmethode nach MEYER-BRUNOT. Vergr. 1:80.

Die Reaktion auf unspezifische Esterasen fällt in den Tumorzellen der untersuchten (meist undifferenzierter) Mammakarzinome mehr oder weniger stark positiv aus. Die Intensität der Reaktion kann von einer Zellgruppe zur anderen variieren (Abb. 3). Das Produkt der Farbstoffkupplung liegt in der Form feinster Tröpfchen im Zytoplasma, der Zellkern bleibt ausgespart. Die Krebszellen im Bereich der Invasionsfront des Tumors zeigen keine stärkere Esteraseaktivität als die mehr zentral gelegenen. Da-

gegen fällt oft die Reaktion im Fettgewebe vor bzw. innerhalb der Invasionsfront stärker aus als im tumorfernen Fett. Die zytoplasmatischen Bestandteile mit Esteraseaktivität säumen naturgemäß die Peripherie der Fettgewebszellen (Abb. 4). Lymphozyten lassen keine sichere Reaktion erkennen. Zu erwähnen ist die intensive Reaktion in den Randgebieten der Nekrosen im Tumor. Hier weisen auch Stromazellen Esteraseaktivität auf.

Die Lipaseaktivität der Mammakarzinome ist sehr gering, sie erscheint etwas stärker im Stroma der Nekrosegebiete. Tumorfernes und tumornahes Fettgewebe reagieren nicht.

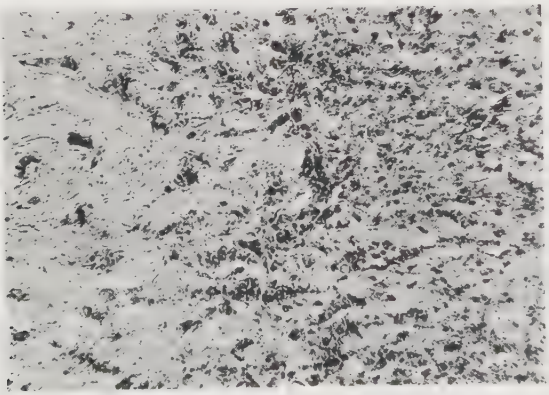

Abb.3: Darstellung der unspezifischen Esterasen in einem Mammakarzinom. Alpha-Naphtol-AS-D-acetat. Vergrößerung 1:80.

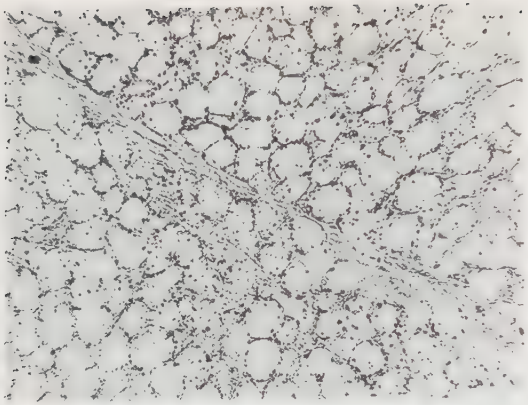

Abb.4: Fettgewebe vor der Invasionsfront eines Mammakarzinoms. Nachweis der unspezifischen Esterasen mit alpha-Naphtol-AS-D-acetat. Vergrößerung 1:80.

In den Zellen der Dickdarmkarzinome, in den vorliegenden Untersuchungen ausschließlich in Fettgewebe einwachsende Drüsenkrebse, läßt sich eine deutliche Esteraseaktivität nachweisen (Abb. 5), die jedoch von einem Drüsenschlauch zum anderen unterschiedlich sein kann. Offensichtlich reagieren hohe Zylinderzellen intensiver als kubische Krebszellen. Die der intakten Schleimhaut benachbarten Karzinomstrukturen färben sich besonders kräftig an, die ins Fettgewebe einwachsenden dagegen nicht stärker als der Durchschnitt. Fettgewebe reagiert schwach positiv bei typischer Lokalisation der Farbtröpfchen an der Peripherie der Zellen. Im meistens esterase-

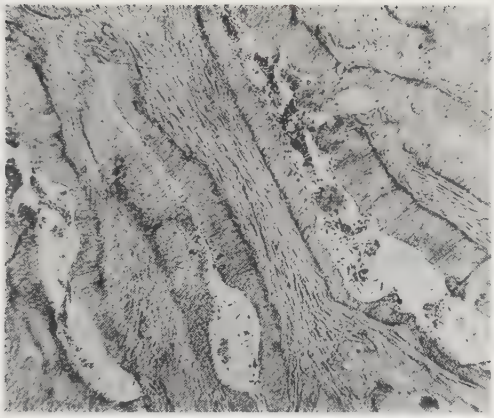

Abb.5: Darstellung der unspezifischen Esterasen in den Zellen eines Colonkarzinoms. Alpha-Naphtol-AS-D-acetat. Vergrößerung 1:80.

freien Stroma fallen einzelne, kräftig gefärbte runde Zellen auf. In den Drüsenlumina finden sich häufig stärker positiv reagierende Massen, in denen neben amorphen Bruchstücken kernhaltige Zellen zu erkennen sind. Wie im Mammakarzinom zeigt sich auch in den Dickdarmkazinomen eine starke Anfärbbarkeit der Randgebiete der Nekrosen.

Die Reaktion auf Lipasen fällt in den einzelnen Dickdarmkarzinomen unterschiedlich, in den meisten Tumoren jedoch schwach aus. Zellkerne und Stroma bleiben stets

ausgespart. Vereinzelt im Stroma liegende offenbar histiozytäre Zellen, die sich bereits durch ihren Esterasegehalt auszeichneten, zeigen auch stärkere Lipasereaktion. In den Zellen des Fettgewebes findet sich keine Reaktion. Es läßt sich keine Abhängigkeit des Fermentgehaltes der Krebszellen hinsichtlich der Nähe des Fettgewebes feststellen.

II.B) 2. Ergebnisse der chemischen Untersuchungen

Zur Prüfung, ob das Fettgewebe vor der Invasionsfront der Tumoren eine andere Zusammensetzung als das tumorferne Fettgewebe hat, wurden die Lipoidextrakte aus entsprechenden Gewebsproben zunächst dünnschichtchromatographisch untersucht. Sollte bei der Destruktion des Fettgewebes durch den Tumor eine Fettspaltung stattfinden, so wäre vielleicht eine Vermehrung der freien Fettsäuren zu erwarten gewesen. Es zeigte sich aber, daß die dünnschichtchromatographisch ermittelte Lipoidzusammensetzung von tumorfernem und -nahem Fettgewebe sich weitgehend gleichen. Den größten Anteil bilden erwartungsgemäß die Triglyzeride; freie Fettsäuren, Cholesterin, Cholesterinester und Diglyzeride sind nur in klei-

nen Mengen nachweisbar (Abb.6).

In gleicher Weise wie für die dünnschichtchromatographische Untersuchung wurde tumornahes und -fernes Fettgewebe bei 3 Mammakarzinomen und 1 Rectumkarzinom gaschromatographisch auf seine Fettsäurezusammensetzung geprüft. Es ergab sich kein auffallender Unterschied in der Zusammensetzung der C_{12} bis C_{20}-Säuren zwischen tumornahem und tumorfernem Fett. Im ersteren scheint Ölsäure etwas stärker vertreten.

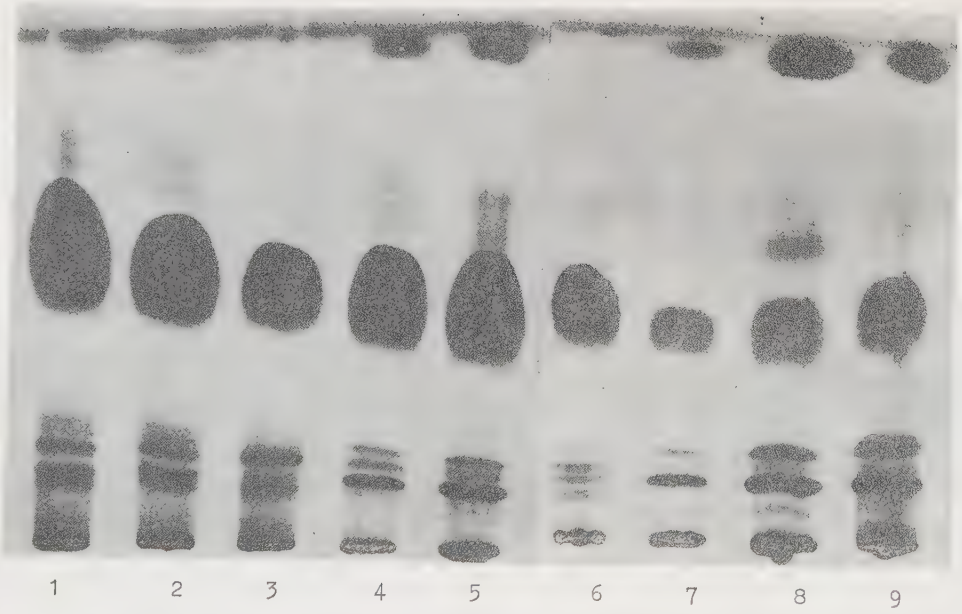

Abb.6: Dünnschichtchromatogramm der Gesamtlipoide von tumorfernem Fettgewebe (Proben 1,2,3), tumornahem Fettgewebe (4,5,6) und Tumorgewebe (7,8,9)

	TUMORNAHES FETTGEWEBE				TUMORFERNES FETTGEWEBE			
FETTSÄURE:	PROBE: I	II	III	IV	I	II	III	IV
$12:0$	1	1	1	1	1	1	1	1
$14:0$	5,0	2,5	4,0	4,0	3,5	5,0	5,5	5,0
$16:0$	32,0	28,0	32,5	29,5	33,0	30,0	36,0	28,0
$16:1$	5,0	6,0	6,0	3,0	5,5	9,0	5,5	4,5
$18:0$	5,0	4,0	4,5	3,0	4,5	3,5	5,5	5,0
$18:1$	45,5	50,5	46,0	51,5	42,5	49,0	38,0	48,5
$18:2$	4,5	3,0	3,5	3,5	5,5	2,0	2,0	4,0
$18:3$	1	1	1	1	1	1	1	1
$20:4$	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 1: Auswertung der gaschromatographischen Untersuchung von Fettproben aus tumornahem und tumorfernem Fettgewebe. Zahlenangaben in Prozent. I - III Mamma-, IV Rectumkarzinom.

II.B) 3. Zusammenfassendes Ergebnis

Die in unmittelbarer Nachbarschaft der invadierenden Krebszellen gelegenen Fettgewebszellen sind kleiner als die weiter entfernten. Häufig scheint ihnen vom wuchernden Krebsstroma eine bestimmte räumliche Ausrichtung aufgezwungen. Oft bleibt die Formierung aus, die Fettzellen scheinen unmittelbar durch Krebszellen ersetzt. Vor den invadierenden Krebszellnestern finden sich im Fettgewebe meist lymphozytäre Infiltrate. Fettgewebsnekrosen sind im Bereich der Invasionsfront nicht zu erkennen.

Die histochemische Fettdarstellung ergibt in vielen Tumorzellen der Mamma- und Dickdarmkarzinome Fett in meist feinsttropfiger Form. In den Lumina der Krebsschläuche finden sich vielfach fetthaltige Massen, die offenbar aus nekrotisierten Krebszellen stammen.

Die histochemische Darstellung freier saurer Gruppen nach der Methode von MEYER-BRUNOT ergibt auch in tumornahen Fettgewebszellen keinen Anhalt für das Vorliegen größerer Mengen freier Fettsäuren.

In den tumornahen und -fernen Fettzellen ist kaum Lipaseaktivität, dagegen meist deutliche Esteraseaktivität vorhanden. Lymphozyten und Rundzellen zeigen im Gegensatz zu

bestimmten zytoplasmareichen histiozytären Zellen keine Esterase- und Lipaseaktivität. Unspezifische Esterasen, die sich durch Natriumfluorid hemmen lassen, kommen in den meisten Tumorzellen vor.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung von tumornahem und -fernem Fettgewebe auf Glyzeride und freie Fettsäuren läßt keinen Anhalt für das vermehrte Auftreten chemischer Abbauprodukte in jenem gewinnen.

Die gaschromatographische Analyse der Gesamtfettsäuren aus tumornahem und -fernem Fettgewebe zeigt keine sicheren Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung. Lediglich Ölsäure scheint im tumornahen Fett etwas reichlicher vorhanden zu sein.

C) Diskussion der Ergebnisse

In der einschlägigen Literatur wird bei der Frage des Fettschwundes in der Umgebung eines Karzinoms neben der zerstörenden Kraft der Krebszellen selbst und dem Wachstumsdruck des Tumors auch der rundzelligen Infiltration vor der Invasionsfront eine Rolle auch bei der Beseitigung des Fettes zugesprochen (KELLNER 1933). Lymphozyten scheinen zwar überall dort aufzutreten, wo eine langsame Einschmelzung von Gewebsbestandteilen stattfindet (KUCZINSKI 1921), doch schon ASCHOFF und KAMIYA (1922) sprachen ihnen die Produktion lipoidspaltender Fermente ab. BRAUNSTEINER (1959), LENNERT und Mitarb. (1962) konnten in Gewebslymphozyten weder mit alpha-Naphtyl- noch mit Naphtol-AS-D-acetat Esteraseaktivität nachweisen. BARNES (1960) will allerdings an isolierten Lymphozyten neben anderen Fermenten auch Lipasen und Esterasen nachgewiesen haben. Bei unseren Untersuchungen zeigte sich weder Lipase- noch Esteraseaktivität in den Lymphozyten. Bei vereinzelten größeren, kräftig reagierenden Zellen könnte es sich um große Plasmazellen oder histiozytäre Elemente handeln.

In ersteren fanden LENNERT und Mitarb. (1962) hydrolytische Enzyme, in letzteren wurden sie von anderer Seite nachge-

wiesen (WACHSTEIN 1962).

Ob die betreffenden Zellen am Fettabbau beteiligt sind, ist schwer zu entscheiden. Jedenfalls dürften die Lymphozyten kaum maßgeblich am Abbau des Fettes im Fettgewebe der Invasionsfront teilnehmen.

Viel Beachtung hat stets das Fett in den Krebszellen selbst gefunden. Es wird teils als Degenerationsprodukt (ZANDER, 1932), teils als Produkt der Zelleistung im Rahmen des Fettstoffwechsels erklärt (SALZMANN, 1914; KELLNER, 1933; KNY 1949). HAGEMEISTER (1903) sieht einen Zusammenhang zwischen dem Schwund des Fettes in den Fettzellen einerseits, seinem Auftreten in den Krebszellen andererseits. Der Fettgehalt der Krebszellen soll mit zunehmender Entfernung vom Fettgewebe abnehmen. Dieser Auffassung können wir uns aufgrund der vorliegenden eigenen Untersuchungen nicht anschließen.

Der Gehalt der Tumorzellen des Mamma- und des Colonkarzinoms an Lipasen, mehr noch an unspezifischen Esterasen scheint von ihrem Differenzierungsgrad abzuhängen, ist aber meist geringer als der der Matrix (MELNIK und Mitarb. 1959; WACHSTEIN und Mitarb. 1959). WACHSTEIN beobachtete bei Colonkarzinomen mitunter eine stärkere Reaktion an der Invasions-

front. Das konnten auch wir in unseren Untersuchungen feststellen soweit die Dickdarmschleimhaut, nicht jedoch das Fettgewebe des Mesenterium invadiert wird.

In den Fettzellen vor und innerhalb der Invasionsfront einiger Mammakarzinome scheint die unspezifische Esterase eine höhere Aktivität zu besitzen als im tumorfernen Fettgewebe. Auch eine positive Lipasereaktion in den beiden zur Diskussion stehenden Fettzonen wäre zu erwarten gewesen, denn im normalen Fettgewebe wurden mehrere Lipasen nachgewiesen (RENOLDS und MARBLE 1950; LYNN 1960). Allerdings scheint eine sichere Abgrenzung der eigentlichen Lipasen, die vorzugsweise auf Triglyzeride eingestellt sind, von unspezifischen Esterasen, welche einfache Ester niederer Fettsäuren abbauen, nicht möglich zu sein (LEUTHART 1961). Da die Färbung nach MEYER-BRUNOT kaum freie Fettsäuren im tumornahen Fett ergab und auch im Dünnschichtchromatogramm in dieser Zone keine Vermehrung der freien Fettsäuren nachzuweisen war, darf indirekt geschlossen werden, daß eine hydrolytische Glyzeridspaltung jedenfalls in nennenswertem Umfang nicht stattfindet.

Was die geringe Vermehrung der Ölsäure im tumornahen Fett betrifft, so müßte an einer größeren Serie nachgeprüft werden, ob es sich hierbei um eine Zufälligkeit handelt oder

ob in der Tat etwa eine Dehydrierung gesättigter Säuren stattfindet.

III. Zusammenfassung

Mit histochemischen, enzymhistochemischen und chemischen Methoden wurde versucht, eine hydrolytische Fettspaltung an der Invasionsfront von Karzinomen im Fettgewebe nachzuweisen.

Die Reaktion auf unspezifische Esterasen ist in den Zellen der meisten Tumoren und den Fettgewebszellen positiv. Lipasen lassen sich fast nur in den Zellen des Mammakarzinoms nachweisen, dagegen kaum im benachbarten Fettgewebe. Die Dünnschichtchromatographie auf Glyzeride, freie Fettsäuren, Cholesterin und seine Ester von Proben aus tumornahem und -fernem Fettgewebe ergibt keine grundsätzlichen Unterschiede. Die gaschromatographische Analyse der Fettsäuren des tumornahen und -fernen Fettes bringt für das erstere einen etwas höheren Gehalt an Ölsäure.

Eine hydrolytische Fettspaltung an der Invasionsfront der Karzinome läßt sich mit den derzeitigen Mitteln der histochemischen und chemischen Analyse nicht nachweisen.

IV. Literaturangabe

ASCHOFF, L. und H. KAMYIA: Über die lipoidspaltende Funktion der Lymphozyten. Dtsch. med. Wschr. 48, 794-796 (1922).

BARNES, J.M.: zit. H. BRAUNSTEINER

BOYLAND, E. and D. McCLEAN: A factor in malignant tissue which increases the permeability of the dermis. J. Path. 41, 553-565 (1959).

BRAUN-STEINER H.: Physiologie und Physiopathologie der weißen Blutzellen. Thieme-Verlag, Stuttgart 1959.

COHEN, R.B., M. NACHLAS and A.M. SELIGMAN: Histochemical demonstrations of esterases in malignant tumors. Cancer Res. 11, 709-711 (1951).

FLEMMING, W.: zit. U. FUCHS.

FOLCH, J., M. LEES and G. STANLEY: A simple method for the isolation and purification of the total lipids from animal tissue. J. biol. Chem. 226, 497-509 (1957).

FUCHS, U.: Messung des sogenannten Gewebsdruckes an Tumoren und Normalgewebe. Zbl.allg.Path.path. Anat. 97, 542 (1955).

GOMORI, G.: Distribution of acid phosphatase in the tissue under normal and under pathologic conditions. Arch.Path. 32, 189-199 (1941).

derselbe: The study of enzymes in tissue sections. Amer.J.clin.Path. 16, 347-352 (1946).

derselbe: Distribution of lipase under normal and under pathologic conditions Arch.Path. 41, 121 (1946).

derselbe: Histochemistry of human esterase. J. Histochem. Cytochem. 3, 479-484 (1955).

GÖSSNER, W.: Untersuchungen über das Verhalten der Esterasen und Phosphatasen während der Autolyse. Virchows Arch. path. Anat. 327, 304-313 (1955).

HAGE-MEISTER F.: Beiträge zur Kenntnis des Fettschwundes und der Fettbildung in ihrer Abhängigkeit von Zirkulationsänderungen. Virchows Arch. path. Anat. 172, 72-108 (1903).

KELLNER, B.: Zur Morphologie der Fette im Karzinom. Frankf.Z.Path. 45, 383-402 (1933).

KINSEL, L.W.: Adipose Tissue as an organ. C.C. Thomas Publ., Springfield, Ill., USA (1962).

KNY, W.: Zur Histogenese des Mammakarzinoms aus den sogenannten blassen Zellen VON SAAR. Virchows Arch.Path.Anat.316, 420-434 (1949).

KUCZINSKI M.: Vergleichende Untersuchungen zur Pathologie der Abwehrleistungen. Virchows Arch. path. Anat. 234, 300-331 (1921).

KISZELY-POSALAKY B.: Mikrotechnische und histochemische Untersuchungsmethoden. Akademis Kiado, Budapest 1964.

LENNERT, K.; LÖFFLER H. und F. GRABNER: Fermenthistochemische Untersuchungen des Lmyphknotens IV. Virchows Arch.path.Anat. 335, 491-512 (1962).

LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie. Thieme-Verlag, Stuttgart 1959.

LEUTHARDT F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 14. Auflage, de Gruyter-Verlag, Berlin 1961.

LINDLAR, F.: Die gallertige Fettgewebsatrophie. Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 327, 95-99 (1962).

derselbe und H.WAGENER: Zur Lipid- und Fettsäurezusammensetzung experimenteller Tumoren. Schweiz.med.Wschr. 94, 243-250 (1964).

LIPP, B.: Histochemische Methoden. Lieferung 17, S.21(1959).

LUBARSCH, O.: Referat über die Genese des Karzinoms. Verh.dtsch.Ges.Path. 12, 32-58 (1908).

LYNN, W.S., C. MASHBURN and R.BROWN: zit.L.W.KINSEL.

MANGOLD, H.K. and N.TUNA: Analysis of tissue lipids by TLC and GLC. Fed.Proc. 20, 268 (1961).

McMANUS and R.W.MOWRY: Staining methods, histologic and histochemic. Harper and Row. New York. 1960.

MELNIK, P.J. and W.K.BULLOCK: Histochemical studies of breast carcinomas. Amer.J.Path. 35, 706-707 (1959).

MEYER-BRUNOT H.G.: Zur histochemischen Unterscheidung von gespaltenem und ungespaltenem Fett. Z. wiss. Mikr. 60, 476-480 (1951-52).

RABL, R.: Morphologische Untersuchungen über die Farbe des Fettgewebes. Virchows Arch. path. Anat. 305, 306-314 (1940).

RANDERATH K.: Dünnschichtchromatographie. Verlag Chemie, Weinheim (1962).

RENOLDS, A.E. and A.MARBLE: zit. L.W.KINSEL.

ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, 15. Auflage, Leibniz-Verlag, München 1948.

SALZMANN, W.: Über Fett und Altmann'sche Granula und über etwaige beibehaltene Funktionen in den Zellen des Brustdrüsenkrebses. Z.Krebsforsch. 14, 119-126 (1914).

WACHSTEIN, M.: Histochemistry of enzymes in tumors. Handbuch der Histochemie VII/2, Fischer-Verlag Stuttgart 1962.

YOUNG, J.S.; C.E.LUMSDEN and A.L.STALKER: The significance of the tissue pressure of normal testicular and of neoplastic (Brown-Pearce carcinoma) tissue in rabbits. J. Path.62, 313-333 (1950).

ZANDER, K.: Über das Vorkommen von Fett in Mammageschwülsten. Virchows. Arch. path. Anat. 283, 458-465 (1932).

ZÖLLNER, N. und D.EBERHAGEN: Untersuchung und Bestimmung der Lipoide im Blut. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1965.

Herrn Privatdozenten Dr.med.F.Lindlar danke ich für das Thema der Arbeit und für die Beratung bei ihrer Gestaltung, Herrn Professor Dr.med.W.Maßhoff dafür, daß ich den experimentellen Teil der Untersuchungen in seinem Institut durchführen durfte.

Frau Rosita Gröbe bin ich für die Einweisung in die Methoden der Chromatographie zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 4.8.1941 wurde ich als Tochter des Verwaltungsinspektors Gustav Liedtke und seiner Frau Anna geb. Schmidt in Berlin- Lichterfelde geboren. Von 1947 bis 1953 besuchte ich die Grundschule, anschließend die Paul-Natorp- Schule in Berlin- Friedenau, wo ich am 1.3.1960 das Abitur ablegte.

Am 18.4.1960 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert, bestand hier am 1.11.1962 die ärztliche Vorprüfung und am 18.4.1966 das medizinische Staatsexamen.

Meine Tätigkeit als Medizinalassistentin begann ich im Oskar-Helene-Heim, Berlin-Dahlem, setzte sie an der Neuköllner Frauenklinik fort und arbeitete dann an der Augenklinik des Krankenhauses Westend.

Zur Zeit bin ich auf der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Nordstadt in Hannover beschäftigt.